

WYZNACZANIE GEOMETRYCZNYCH PARAMETRÓW STRUKTURY KOMÓRKOWEJ TKANEK ROŚLINNYCH

K. Konstankiewicz

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: konst@demeter.ipan.lublin.pl

Streszczenie. Praca przedstawia aktualne badania prowadzone w Zakładzie Mechaniki Materiałów Rolniczych w zakresie metod wyznaczania geometrycznych parametrów struktury komórkowej tkanki roślinnej: 1) dla próbek w stanie naturalnym bez preparacji przy wykorzystaniu optycznego mikroskopu konfokalnego, 2) dla próbek impregnowanych z zafiksowaną strukturą obserwowanych pod mikroskopem optycznym w świetle przechodzącym.

Słowa kluczowe: parametry struktury, struktura komórkowa tkanki roślinnej, analiza obrazu.

WSTĘP

Większość roślinnych surowców biologicznych produkowanych przez rolnictwo stanowią materiały, które podlegają różnorodnym procesom technologicznym. Nowoczesne przetwórstwo oczekuje surowca o wysokiej jakości, jednorodności i stabilności cech, spełniającego określone warunki do ukierunkowanego zagospodarowania. Jednocześnie wzrastają wymagania co do jakości produkowanej żywności oraz lepszego jej wykorzystania. Wiąże się z tym konieczność poznawania coraz szerszej gamy właściwości fizycznych, a także ich zmian w trakcie całego procesu technologicznego. Do podstawowych właściwości fizycznych rolniczych ośrodków roślinnych należy ich struktura.

Struktura tkanki roślinnej, ilościowo opisana przy pomocy parametrów wielkości i kształtu komórek oraz ich rozkładów, jest cechą charakterystyczną badanych ośrodków - jest niejednorodna, niestabilna i ma wpływ na zachowanie się materiału w trakcie całego procesu produkcyjnego. Prawidłowe jej scharakte-

ryzowanie i wykorzystanie w programach badawczych wymaga w każdym przypadku ilościowych oznaczeń parametrów struktury, a szczególnie związanych z wielkością komórek [6,12,13,16,17,22].

Zakład Mechaniki Materiałów Rolniczych od paru lat prowadzi badania z zakresu metodyki ilościowego wyznaczania geometrycznych parametrów struktury komórkowej tkanki roślinnej: *i)* w stanie naturalnym, bez preparacji oraz *ii)* utrwalonej, poprzez impregnację próbki. Głównym celem prowadzonych badań jest określenie wpływu parametrów struktury komórkowej na powstawanie wewnętrznych uszkodzeń tkanki roślinnej oraz rejestrację i przebieg zmian struktury, głównie pęknięć, w wyniku oddziaływań mechanicznych [2,18,19,22,23].

STRUKTURA KOMÓRKOWA TKANKI ROŚLINNEJ

Jedną z podstawowych właściwości fizycznych charakteryzujących materiał badawczy jest struktura, która wpływa w decydujący sposób na pozostałe jego właściwości: fizyczne, chemiczne i biologiczne. W przypadku materiałów roślinnych mamy do czynienia ze strukturą komórkową o wysokim stopniu złożoności - ma ona cechy ośrodka dyskretnego z relatywnie dużymi rozmiarami nieciągłości, stochastycznego i metamorficznego [1,6,13,16,17]. Takie materiały są szczególnie podatne na różnego rodzaju oddziaływania, np. mechaniczne, termiczne, a zmiany struktury mogą powodować cały szereg procesów prowadzących do uszkodzeń wewnętrznych i w efekcie obniżania jakości i psucia się materiału. Dotyczy to wielu materiałów rolniczych (owoce, warzywa), a zjawiska te są powszechnie znane i opisywane w literaturze prezentującej wyniki badań empirycznych [4,11,15,25].

Procesy fizyczne, jak np. pękanie w oddziaływaniach mechanicznych czy skurcz w wyniku suszenia, są inicjowane na poziomie komórki. Poznanie przebiegu takich procesów wymaga więc znajomości budowy strukturalnej tkanki roślinnej, przede wszystkim rozmieszczenia, kształtu i wymiaru komórek. Wcześniejsze badania wykazały m. in., że wielkość komórek ma wpływ na naprężenia rozciągające w ich ścianach i procesy pękania w całej strukturze. Komórki większe są narażone na zniszczenia w pierwszej kolejności a rozwój procesu pękania zależy od rozkładu prawdopodobieństwa ich wielkości [13,19,20,21]. Ilościowe opisanie parametrów struktury komórkowej staje się niezbędne do interpretacji wielu danych doświadczalnych a także przy opracowaniu teoretycznych modeli niszczenia takich ośrodków [3,5,8,10,13,26].

Dotychczasowe wyniki potwierdzają, że dominującym procesem w zniszczeniach struktury komórkowej roślinnych ośrodków są jej pęknięcia. Badania nad jakościową i ilościową analizą rozwoju pęknięć w takich ośrodkach są bardzo złożone i trudne technicznie. Na przebieg badanego procesu wpływa początkowy stan fizyczny ośrodka, a szczególnie parametry jego struktury wynikające z różnic odmianowych, niejednorodności tkanki (np. rdzeń wewnętrzny i zewnętrzny, wielkość komórek, ciśnienie wewnątrzkomórkowe) oraz warunki odkształcania (np. prędkość) [14,20,27]. W efekcie zniszczenia powstają zmiany struktury wewnętrznej badanego ośrodka, głównie pęknięcia, obserwowane jako szczeliny, różnego rozmiaru i różnej złożoności. Poznanie i uwzględnienie wielu procesów fizycznych na poziomie mikroskopowym może dać informację o charakterystykach pęknięć (uszkodzeń) w skali makroskopowej i ewentualnych przeciwdziałaniach tym niepożądanym procesom [13, 23].

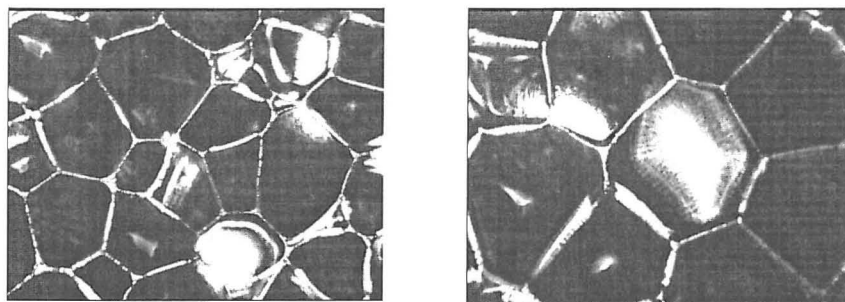
OBSEWACJE MIKROSKOPOWE STRUKTURY KOMÓRKOWEJ TKANKI ROŚLINNEJ W STANIE NATURALNYM BEZ PREPARACJI

Problem ilościowego opisu parametrów struktury komórkowej związany jest z doбором odpowiedniej metody uzyskiwania obrazu struktury, najlepiej w naturalnym stanie bez preparacji, oraz rejestracji i analizy obrazu, dobranej do analizowanego obiektu [18, 24]. W pracach naszych wykorzystujemy optyczny mikroskop konfokalny (Tandem Scanning Light Microscope – TSRLM), który umożliwia badania próbek biologicznych w stanie naturalnym, bez utrwalania i szlifowania [24]. Wykorzystywane obiektywy Plan 10/0.25 i 20/0.4, pozwalają uzyskiwać na jednym obrazie od kilku do kilkunastu przekrojów całych komórek, Rys 1, [22].

Zastosowany precyzyjny, ciągły przesuw obiektu w płaszczyźnie x-y umożliwia przeprowadzenie całej obserwacji (~20 obrazów) jednej próbki w ciągu kilku minut, co w warunkach stałej temperatury pokojowej (~20°C) i wilgotności względnej powietrza (50 – 60%) nie powoduje jej wysychania.

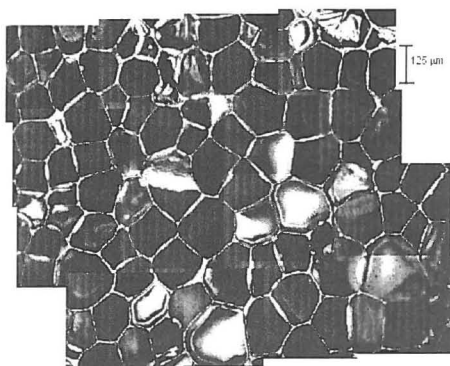
System ten umożliwia precyzyjne złożenie kilku sąsiadujących ze sobą obrazów w taki sposób, że w efekcie otrzymujemy na jednym obrazie dużą liczbę (kilkadziesiąt) całych komórek, Rys. 2, [7].

Na uzyskiwanych obrazach widoczne są wyraźnie kontury ścian komórkowych, jednak występują też obszary w postaci jasnych plam pochodzące od powierzchni błon komórkowych lub resztek cieczy na dnie komórki. Stanowi to pewne utrudnienie w zastosowaniu automatycznej analizy obrazu.



Rys. 1. Obraz struktury komórkowej tkanki bulwy ziemniaka, v. *Kuba* (2001): a) rdzeń wewnętrzny, b) rdzeń zewnętrzny – optyczny mikroskop konfokalny, obiektyw Plan 20/0.4.

Fig. 1. Microscopic image of potato tuber tissue, var. *Kuba* (2001): a) inner core, b) outer core – light confocal microscope, lens Plan 20/0.4.



Rys. 2. Obraz struktury komórkowej tkanki bulwy ziemniaka złożony z 16 pojedynczych obrazów – optyczny mikroskop konfokalny, obiektyw Plan 20/0.4.

Fig. 2. Composition of the 16 microscopic images of potato tuber tissue – light confocal microscope, lens Plan 20/0.4.

ANALIZA OBRAZU Z OPTYCZNEGO MIKROSKOPU KONFOKALNEGO

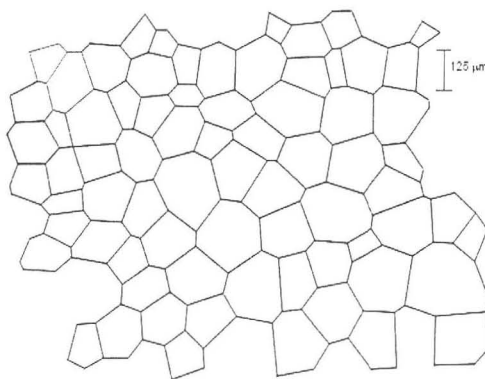
Obrazy mikroskopowe otrzymane z optycznego mikroskopu konfokalnego wymagają pewnej procedury przygotowawczej przed analizą parametrów struktury [18]. Jest ona czasochłonna ale pozwala na jednoznaczne wyodrębnienie interesujących nas ścian komórkowych. Każdy z obrazów wymaga opracowania ręcznego poprzez obrysowanie widocznych ścian komórkowych. Obrysowywanie zwykle prowadzi równolegle kilku obserwatorów co pozwala na uniknięcie błędów subiektywnych i uzyskanie dobrej powtarzalności wyników. Na obraz mikroskopowy można nałożyć szkielet struktury w postaci siatki przylegających do siebie wielo-

kątów - najczęściej są to 6- i 5-kąty - o różnych rozmiarach, utworzonych z odcinków łączących widoczne węzły ścian komórkowych. Węzeł identyfikujemy jako połączenie minimum trzech ścian komórkowych. Tak uzyskane binarne szkielety obrazów mikroskopowych można poddawać komputerowej analizie w celu wyznaczenia parametrów struktury, Rys. 3, [7,18,22].

Analiza obrazów pozwala na wyznaczenie parametrów związanych z rozmiarem każdej komórki: powierzchni $-A$, obwodu $-P$, średnic Fereta, maksymalnej $-F_{max}$ i minimalnej $-F_{min}$, oraz z kształtem komórki: stosunku średnic Fereta $-F_{min} / F_{max}$ wydłużenia $-E$ (stosunek różnicy maksymalnej i minimalnej średnicy elipsy wpisanej w komórkę do sumy tych średnic), zwartości $-C$ ($16 A/P^2$), [18].

Przeliczenie wyników – powierzchni, obwodów i średnic - uzyskanych w pikselach na jednostki długości jest natychmiastowe na podstawie skali, którą można uzyskać poprzez przeprowadzenie analogicznej analizy dla obiektu o znanych płaskich wymiarach. Do analizy statystycznej i uzyskania rozkładów mierzonych wielkości wykorzystujemy program Excel.

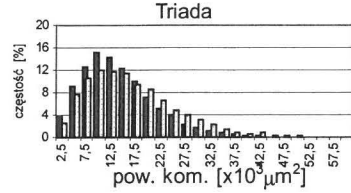
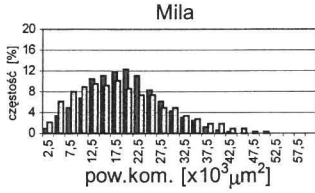
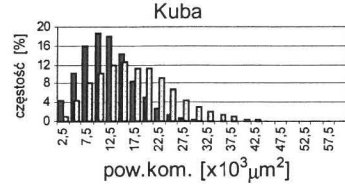
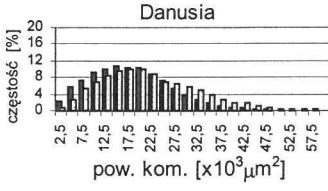
Każdy badany obiekt wymaga indywidualnego wyznaczenia optymalnej liczby komórek niezbędnej do ilościowej analizy geometrycznych parametrów struktury oraz ich rozkładów. W aktualnie prowadzonych badaniach nad strukturą tkanki miękkiszowej bulwy ziemniaka wykorzystujemy po kilkaset komórek (w zależności od ich wielkości), w każdej serii pomiarowej. Przy tak dużej liczbie obiektów możliwe jest porównywanie średnich wartości zmierzonych parametrów, np. dla różnych odmian, lat uprawy i zbioru, miejsc pobrania próbek w poszczególnych bulwach. Przykładowe rozkłady średnich wartości parametrów struktury pokazują kolejne rysunki, Rys. 4 i Rys. 5, [22].



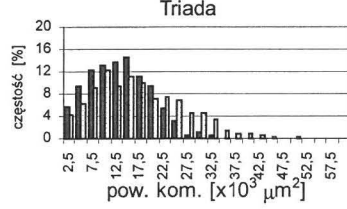
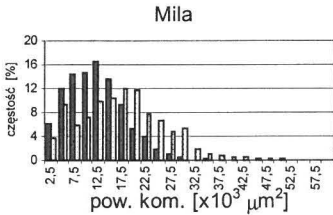
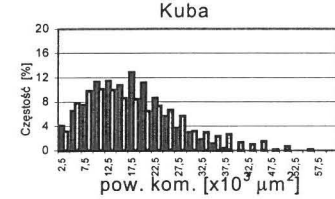
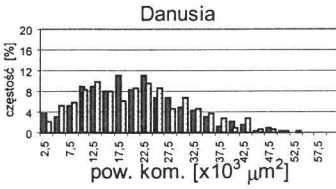
Rys. 3. Szkielet struktury komórkowej tkanki bulwy ziemniaka uzyskany na podstawie obrazu mikroskopowego pokazanego na Rys. 2.

Fig. 3. Skeleton of the cell structure of the potato tuber tissue according to the microscope image from Fig. 2.

1999



2000

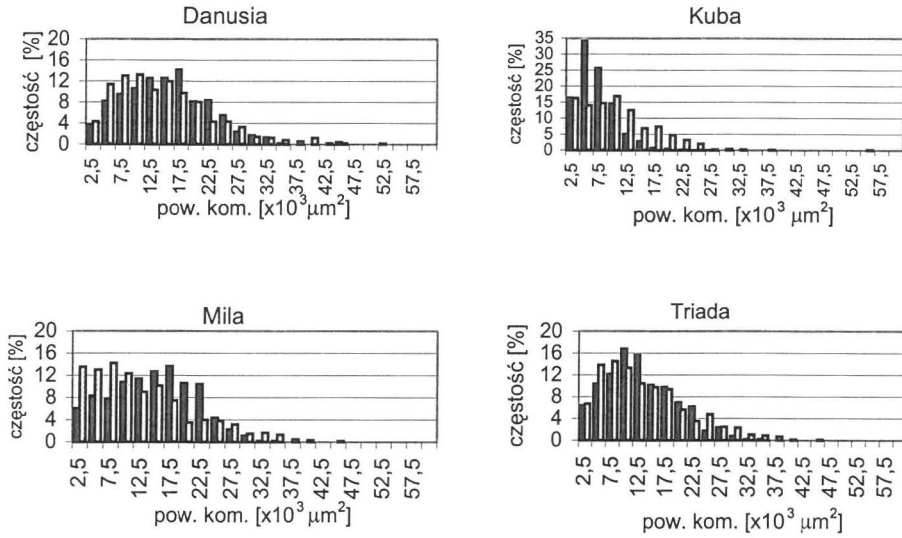


Rys. 4. Rozkłady pola powierzchni komórek dla czterech odmian ziemniaka z uwzględnieniem rdzenia zewnętrznego i wewnętrznego (zbiory: 1999, 2000, 2001).

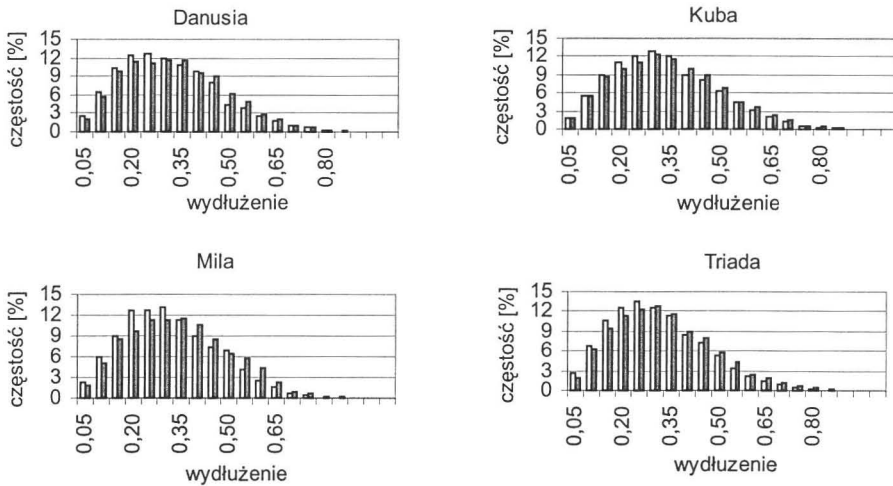
Fig. 4. Distribution of the cell surface area of the four potato varieties taking into consideration the outer and inner core (harvest of 1999, 2000, 2001).

c.d. Rys. 4.

2001



1999

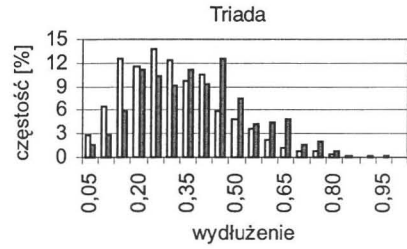
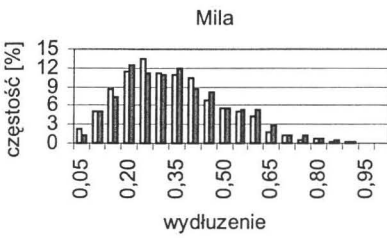
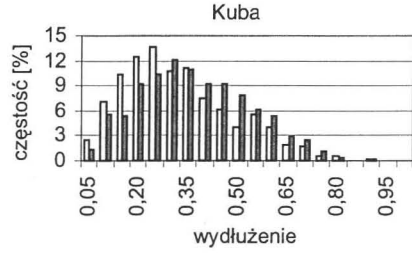
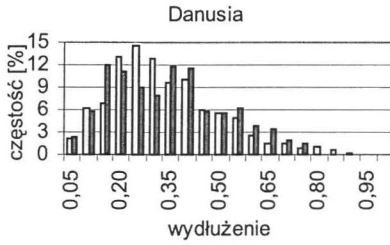


Rys. 5. Rozkłady wydłużenia komórek dla czterech odmian ziemniaka z uwzględnieniem rdzenia zewnętrznego (białe słupki) i wewnętrznego (szare słupki) ze zbiorów: 1999, 2000 i 2001.

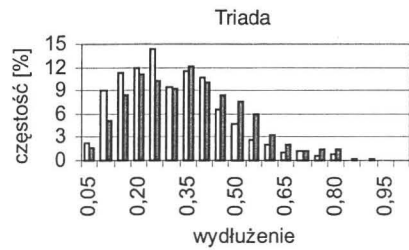
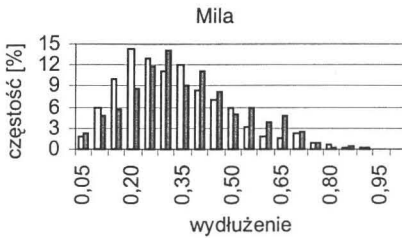
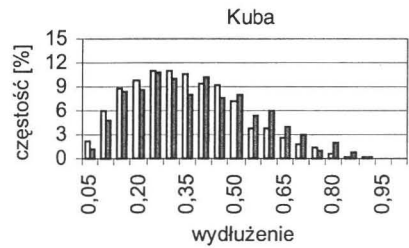
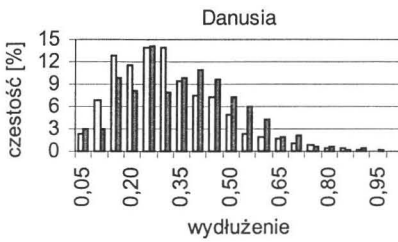
Fig. 5. Distribution of the cell elongation of the four potato varieties taking into consideration the outer (white columns) and inner core (grey columns), harvest of 1999, 2000, 2001.

c.d. Rys. 5.

2000



2001



ZMIANY STRUKTURY KOMÓRKOWEJ I ANALIZA ILOŚCIOWA
JEJ PARAMETRÓW

Dotychczasowe wyniki potwierdzają, że dominującym procesem w zniszczeniach struktury komórkowej roślinnych ośrodków są jej pęknięcia. Badania nad jakościową i ilościową analizą rozwoju pęknięć w takich ośrodkach są bardzo złożone i trudne technicznie. W efekcie zniszczenia powstają zmiany struktury wewnętrznej, obserwowane jako szczelina różnych rozmiarów wraz z rozgałęzieniami, Rys. 6, [23].

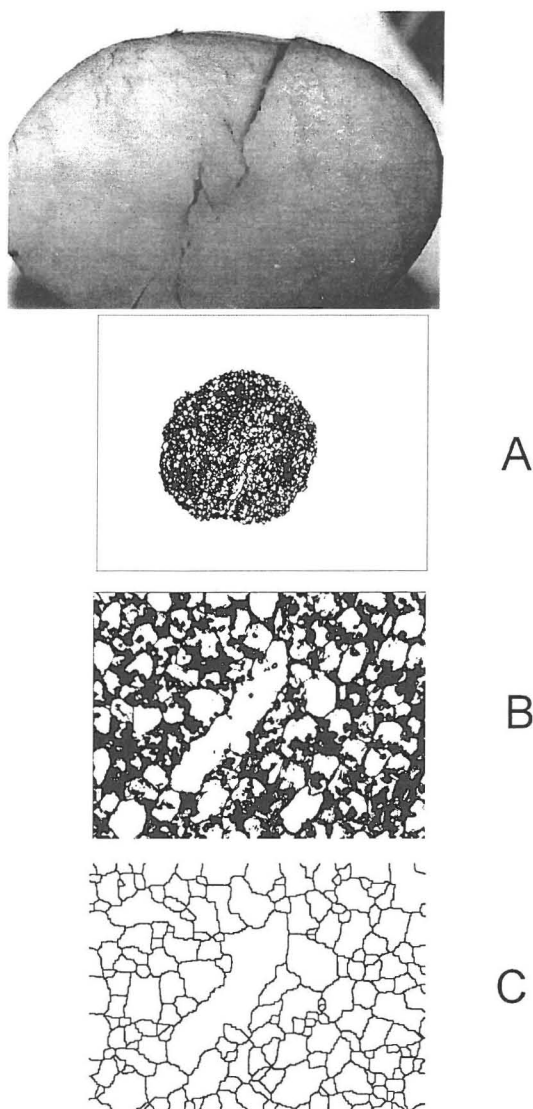
Ocena zmian struktury komórkowej w wyniku jej pęknięcia wymaga odpowiedniej metody przygotowania i obserwacji badanej próbki. Zapoczątkowaliśmy badania nad zmianami struktury tkanki miękkiszowej bulwy ziemniaka w wyniku uszkodzeń mechanicznych według następującej procedury:

- ✓ utrwalać strukturę próbki do stanu umożliwiającego jej obróbkę mechaniczną i długotrwałe przechowywanie,
- ✓ uzyskiwanie cienkich przekrojów tkanki do badań mikroskopowych,
- ✓ usunięcie substancji wypełniającej próbkę i uzyskanie szkieletu struktury,
- ✓ akwizycja obrazu mikroskopowego,
- ✓ transformacja obrazu struktury tkanki, pozwalająca na identyfikację pojedynczych komórek,
- ✓ parametryzacja komórek.

Do utrwalać próbek wykorzystujemy metodę parafinową, która dobrze nadaje się do „zachowania” stanu uszkodzonej struktury a następnie uzyskiwania całych serii przekrojów, o dowolnej grubości, wypełnionej próbki. Można w ten sposób przygotowywać próbki w stanie wyjściowym, przed dokonaniem zmian struktury, i po wykonaniu eksperymentu wywołującego pęknięcie, z utrwaloną, zmienioną strukturą [2,9,23].

W obydwu powyższych przypadkach, próbki po utrwaleniu można poddawać procedurze precyzyjnego cięcia przy pomocy mikrotomu uzyskując cienkie skrawki (od kilku do kilkudziesięciu μm). Jest możliwe dobranie takiego sposobu cięcia, który umożliwi uzyskanie sekwencji kolejnych przekrojów wzdłuż osi próbki i rejestrację zmian w strukturze komórkowej w całej próbce, np. w wyniku różnych testów mechanicznych.

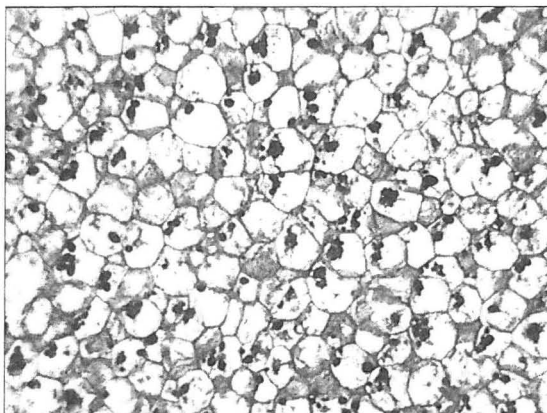
Mimo tych trudności z powodzeniem zapoczątkowaliśmy badania nad zmianami struktury komórkowej w wyniku odkształceń mechanicznych.



Rys. 6. Pęknięcie tkanki mięszkowej bulwy ziemniaka w wyniku oddziaływań mechanicznych: zdjęcie górne - zniszczenie widoczne na poprzecznym przekroju bulwy ziemniaka, poniżej A, B - obrazy mikroskopowe struktury tkanki z widocznym pęknięciem, C - szkielet struktury przygotowany do analizy ilościowej.

Fig. 6. Crack of the parenchyma tissue of the potato tuber as a mechanical effect: high photo – image of damage on the cross section of the potato tubers, lower are presents A, B -microscope images of the structure with the visible crack and C - skeleton of them ready to quantitative analysis.

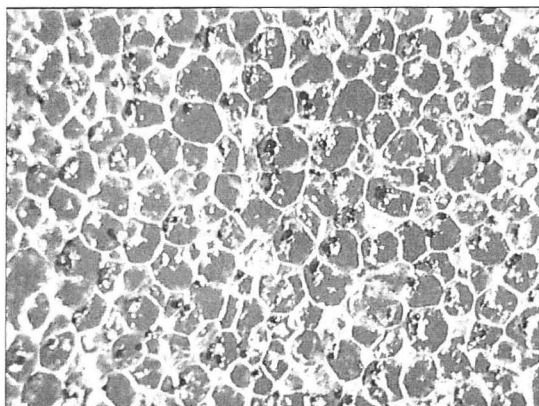
Obraz mikroskopowy dla każdego przekroju próbki uzyskujemy w mikroskopie optycznym w świetle przechodzącym, rejestrujemy przy pomocy kolorowej kamery CCD oraz karty do przechowywania obrazu, a następnie poddajemy dalszym transformacjom, Rys. 7, [23].



Rys. 7. Obraz mikroskopowy utrwalonej struktury komórkowej tkanki bulwy ziemniaka – mikroskop optyczny.

Fig. 7. Microscope image of the fixed structure of the potato tissue – optic microscope.

Uzyskany z mikroskopu obraz struktury komórkowej jest trudny do analizy. Oprócz przeciętych ścian komórkowych widoczne są zawsze ziarna skrobi, często stykające się ze sobą i zasłaniające krawędzie ścian, a ponadto część ścian jest nieostra ponieważ ich płaszczyzny nie były prostopadłe do płaszczyzny oglądanego przekroju. Oba te czynniki, w powiązaniu z wadami układu optycznego mikroskopu, utrudniają automatyczną identyfikację struktur komórkowych. Aktualnie prowadzimy prace nad uzyskaniem lepszej jakości obrazu oraz nad automatyczną identyfikacją elementów struktury i ich analizą, Rys. 8.



Rys. 8. Obraz mikroskopowy utrwalonej struktury komórkowej tkanki bulwy ziemniaka z zabarwionymi ziarnami skrobi – mikroskop optyczny.

Fig. 8. Microscope image of the fixed structure of the potato tissue with colored grain of the starch – optic microscope.

Przeprowadzone wstępne badania dla tkanki miękkiszowej bulwy ziemniaka (walcowe próbki o średnicy 5 mm i wysokości 5 mm) pokazały możliwość analizy zmian struktury w wyniku ściskania próbki w maszynie wytrzymałościowej, według zadanego programu. Próbki po teście mechanicznym poddano procedurze utrwalania i precyzyjnego cięcia przy pomocy mikrotomu uzyskując cienkie skrawki o grubości 25 μm . Wybrano dosyć dużą grubość skrawków ze względu na znaczne wymiary komórek tkanki ziemniaka, natomiast zastosowany sposób cięcia pozwolił na uzyskanie sekwencji kolejnych przekrojów i rejestrację zmian w strukturze komórkowej po odkształceniu. Należy zaznaczyć, że uzyskuje się tym sposobem bardzo dużą liczbę obrazów do analizy, której praktycznie nie można przeprowadzić bez specjalistycznego, automatycznego programu analizującego.

Opracowana procedura pozwala na wykonywanie analiz dużej liczby obrazów i uzyskiwanie parametrów geometrycznych struktury komórkowej tkanki miękkiszowej bulwy ziemniaka – takich jak przedstawiono powyżej dla przypadku tkanki w stanie naturalnym, (powierzchnia, obwód, średnice Fereta, stosunek średnic Fereta minimalnej i maksymalnej, wydłużenie, zwartość).

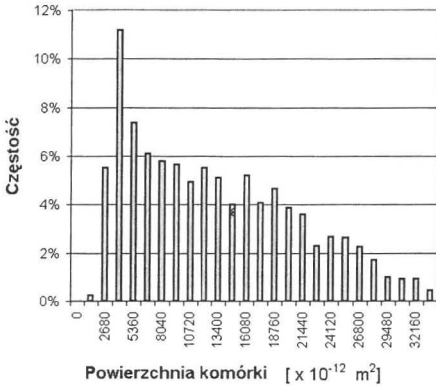
Należy zaznaczyć, że uzyskane parametry struktury odnoszą się do płaskich przekrojów komórek, a nie obiektów trójwymiarowych - tak więc powierzchnia komórki oznacza powierzchnię jej przekroju. Wyniki można przedstawić w postaci rozkładów częstości poszczególnych parametrów, które przeważnie nie są rozkładami normalnymi.

Szukając związku między odpornością mechaniczną i parametrami geometrycznymi komórek należy się spodziewać, że częstość występowania komórek należących do pewnych klas w próbce pękniętej zmieni się w stosunku do stanu kontrolnego.

Poniżej przedstawiono przykładowe wyniki uzyskane dla wybranej odmiany ziemniaka, w postaci odpowiednich histogramów. Pokazano też różnice rozkładów parametrów struktury spowodowane jej pękaniem pod wpływem oddziaływań mechanicznych, Rys. 9 – 16, [23].

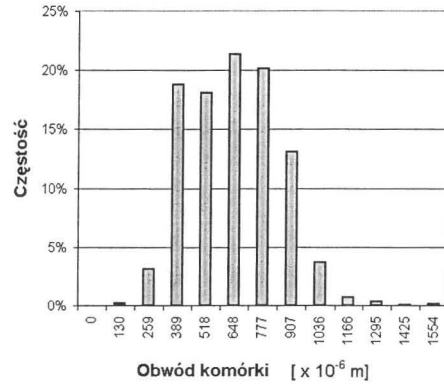
Analiza powyższych przykładowych wyników pozwala zauważyć, że w strukturze z pęknięciami: *i*) zmalała liczba komórek większych natomiast wzrosła mniejszych, *ii*) zmienił się kształt komórek, wyrażony poprzez iloraz średnic Fereta. Zmniejszył się udział komórek o kształcie zbliżonym do kwadratu (stosunek średnic 0,8 – 1,0) i jednocześnie wzrósł udział komórek wydłużonych (stosunek średnic 0,5). Można też określić te komórki, które są mało podatne na zmianę swojego kształtu w wyniku odkształceń (iloraz średnic Fereta: $0,75 \pm 0,05$).

Podobne zależności występują dla innych odmian, chociaż dla każdej z nich są charakterystyczne. Jest możliwa szczegółowa analiza otrzymanych histogramów pod kątem różnych badanych cech ośrodka, np. zmian w wyniku odkształcenia mechanicznego, różnic odmianowych, itp.



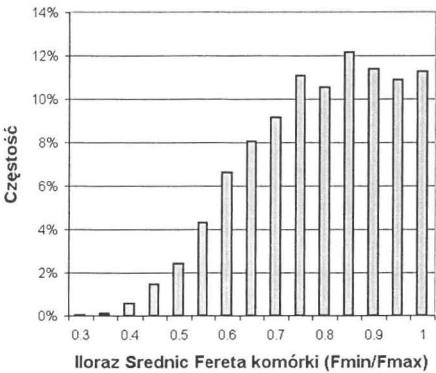
Rys. 9. Rozkład powierzchni komórek ziemniaka, *var. Triada*, przed pęknięciem.

Fig. 9. Distribution of the area for potato cells, *var. Triada*, before cracking.



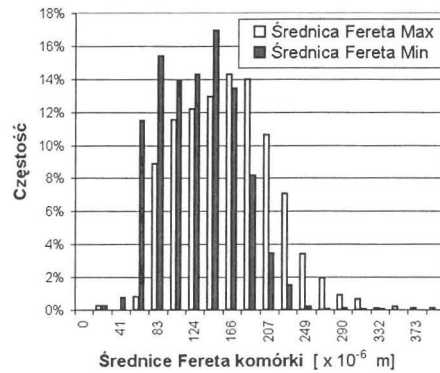
Rys. 10. Rozkład obwodów komórek ziemniaka, *v. Triada*, przed pęknięciem.

Fig. 10. Distribution of the perimeter for potato cells, *var. Triada*, before cracking.



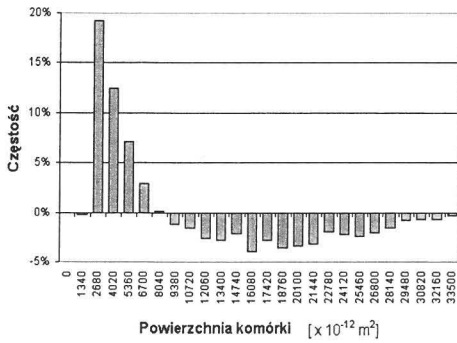
Rys. 11. Rozkład ilorazu średnic Fereta komórek ziemniaka, *v. Triada*, przed pęknięciem.

Fig. 11. Distribution of the Feret's diameters ratio for potato cells, *var. Triada*, before cracking.



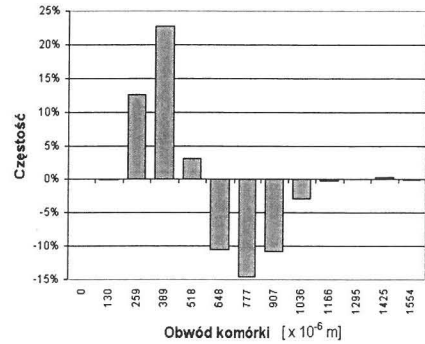
Rys. 12. Rozkłady średnic Fereta komórek ziemniaka, *v. Triada*, przed pęknięciem.

Fig. 12. Distribution of the Feret's diameters for potato cells, *var. Triada*, before cracking.



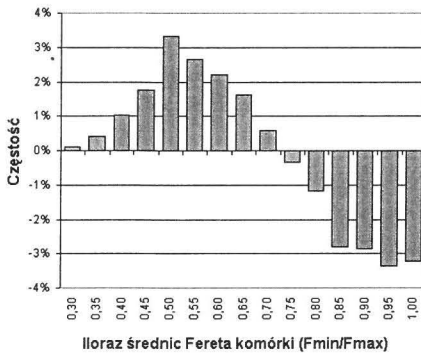
Rys. 13. Różnica rozkładów powierzchni komórek ziemniaka, v. *Triada*, pęknięte - bez pęknięć.

Fig. 13. Difference of the area distributions for potato cells, var. *Triada*, after-before cracking.



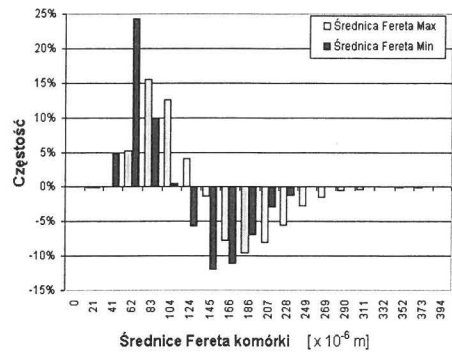
Rys. 14. Różnica rozkładów obwodu komórek ziemniaka, v. *Triada*, pęknięte - bez pęknięć.

Fig. 14. Difference of the perimeter distributions for potato cells, var. *Triada*, after-before cracking.



Rys. 15. Różnica rozkładów ilorazu średnic Fereta komórek ziemniaka, v. *Triada*, pęknięte - bez pęknięć.

Fig. 15. Difference of the Feret's diameters distributions for potato cells, var. *Triada*, after-before cracking.



Rys. 16. Różnica rozkładów średnic Fereta komórek ziemniaka, odmiana *Triada*, pęknięte - bez pęknięć.

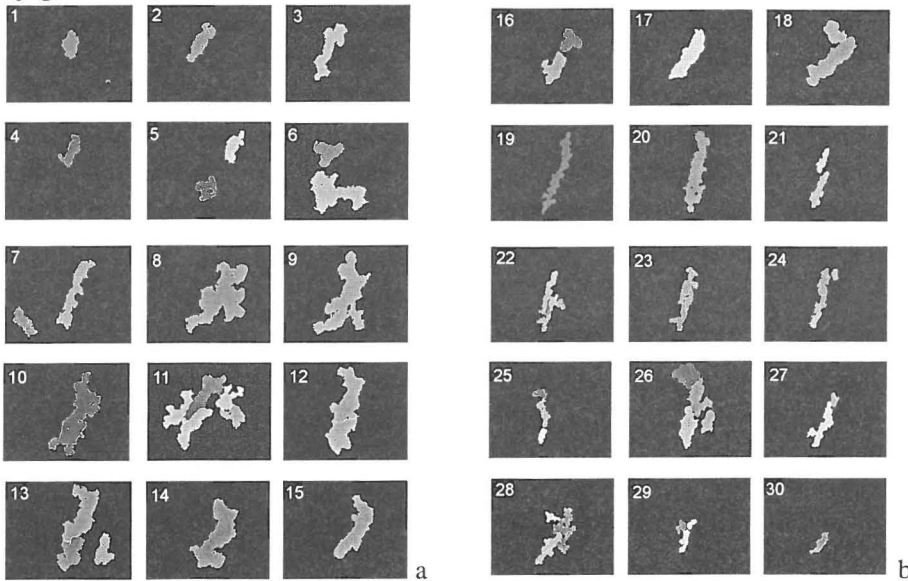
Fig. 16. Difference of the Feret's diameters distributions for potato cells, var. *Triada*, after-before cracking.

W polu widzenia mikroskopu widoczna jest tylko część powierzchni przekroju pojedynczego skrawka, zarejestrowanie więc całej powierzchni wymaga zwykle wykonania kilkudziesięciu, przystających do siebie ujęć. Przy dużych pęknięciach może być konieczne precyzyjne łączenie ze sobą kilku obrazów, z kolejnych przekrojów, zawierających jego fragmenty. Przy takiej procedurze postępowania

otrzymano serię obrazów pojedynczego pęknięcia w próbce bulwy ziemniaka – próbka walcowa o wymiarach 5x5 mm, łącznie 144 przekrojów prostopadłych do osi próbki co 25 μm każdy, Rys. 17, [23].

Przedstawiona seria obrazów pokazuje przebieg pęknięcia we wnętrzu odkształcanej próbki bulwy ziemniaka. Udało się zarejestrować początek (obraz 1 na Rys.17a.) jak i koniec szczeliny (obraz 30 na Rys. 17b.), a także zmiany jej rozmiarów i kształtu na całej długości. Każdy z uzyskanych obrazów może być poddany, przedstawionej wcześniej, analizie.

Na większości obrazów można zaobserwować po kilka oddzielnych szczelin (nawet 5 na obrazie 11, Rys. 17a.) co może wskazywać na lokalny wzrost naprężeń w różnych miejscach próbki i możliwość: *i*) powstawania szeregu mikropęknięć w wyniku uszkodzeń pojedynczych komórek, *ii*) rozgałęzienia głównej szczeliny. W obu wymienionych przypadkach, przebieg pęknięcia będzie zależał od rozkładu prawdopodobieństwa wielkości komórek znajdujących się w otoczeniu szczeliny. Komórki większe będą narażone na uszkodzenia w pierwszej kolejności, natomiast skupiska komórek małych mogą doprowadzić do zatrzymania procesu pęknięcia lub na jego zmianę.



Rys. 17 a - b. Obrazy szczeliny, powstałej w skutek odkształcenia mechanicznego, na kolejnych przekrojach próbki tkanki ziemniaka. Obraz 1 – początek szczeliny, obraz 30 – koniec szczeliny.

Fig. 17 a - b. Sequence of the potato tuber crack pictures resulting the deformation of potato samle. Image 1 – the top of the crack, image 30 – the end of the crack.

PODSUMOWANIE

Ilościowe wyznaczenie geometrycznych parametrów struktury komórkowej oraz ich rozkładów poszerza charakterystykę materiałową ośrodka roślinnego, poddawanego ciągłym oddziaływaniom różnego typu a także modyfikowanego w różny sposób.

Prace nad zmianami struktury w wyniku odkształceń mechanicznych wymagają precyzyjnych pomiarów związanych z uzyskaniem dobrej jakości obrazu mikroskopowego struktury, zarówno w stanie naturalnym jak i po utrwaleniu, a potem analizy dużej liczby danych – co jest związane z odpowiednim sprzętem i dużą praktyką zespołu badawczego. Jednak możliwość uzyskania całkowicie oryginalnych wyników prowadzących do poznania mechanizmu pęknięcia struktury komórkowej uzasadnia kontynuowanie badań w tym zakresie. Poznanie zjawiska pęknięcia w skali „mikro” może dać informację o zachowaniu się całego obiektu i ewentualnych przeciwdziałaniach tym niepożądanym procesom w jak najwcześniejszej fazie zniszczenia.

Dotychczasowym obiektem badawczym w naszych pracach jest ziemniak, co z jednej strony można uzasadnić tym, że posiada dosyć duże komórki o słabej błonie a więc łatwo podatne na uszkodzenia, a z drugiej strony praktycznym problemem wynikającym z potrzeby zmniejszenia strat w produkcji.

Opracowane dla ziemniaka oryginalne metody obserwacji struktury komórkowej oraz analiza jej parametrów geometrycznych, a także ich zmian w wyniku mechanicznych uszkodzeń struktury, mogą być łatwo adaptowane do badania innych ośrodków roślinnych.

PIŚMIENNICTWO

1. **Aaby – Gautier, Clavel M., Dunne F.:** Euromech-Mecatmat'2000, 4th European Mechanics of Materials Conference, Microstructures and Mechanical Properties, Eds., Metz, France, 26-29 June, 2000, 2001.
2. **Czachor H., Konstankiewicz K., Pawlak K., Wojnar L.:** Application of image analysis for the parameterisation of potato tuber tissue. STERMAT'2000, Kraków, September 20-23, 2000, 301-306, 2000.
3. **Czachor H. M., Góźdź A.:** Modelling of granular and cellular materials. Trans. ASAE, 44(2), 439-445, 2001.
4. **Dean B.:** The chemical nature of blackspot bruising. Potato Bruising; How and Why; Emphasizing Blackspot Bruise. Ed. R.C. Brook, Haslett, MI: Running Water Publishing, 1996.
5. **Endy D., Brent R.:** Modelling cellular behaviour. Nature, 409, 391-395, 2001.

6. **Fornal J.:** The changes in plant material microstructure during processing. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 7/48, 3(S), 9-23, 1998.
7. **Gancarz M.:** Composition method of microscope images for the potato tuber tissue structure investigation. 1st International Workshop for young scientists, BioPhys Spring 2002, Prague, Czech Republic, 28 May 2002.
8. **Gao Q., Pitt R.E.:** Mechanics of parenchyma tissue based on cell orientation and microstructure. *Trans. ASAE*, 34(1), 232-238, 1991.
9. **Gerlach D.:** *Zarys Mikrotechniki Botanicznej*. PWRiL, Warszawa, 1972.
10. **Góźdz A., Pietrow M.:** A 'quantum mechanics' approach to the granular and cellular media. *Int. Agrophysics*, 13(2), 185-190, 1999.
11. **Hallett I.C., Mac Rae E.A., Węgrzyn T.F.:** Changes in kiwi-fruit cell wall ultra structure and cell packing during post harvest ripening. *Int. J. Plant Sci.*, 153, 49-62, 1992.
12. **Haman J., Konstankiewicz K.:** Procesy zniszczenia w komórkowym ośrodku roślinnym. *Acta Agrophysica*, 24, 67 – 86, 1999.
13. **Haman J., Konstankiewicz K.:** Destruction Processes in the Cellular Medium of a Plant – Theoretical Approach. *Int. Agrophysics*, 14 (1), 37-42, 2000.
14. **Haman J., Konstankiewicz K., Zdunek A.:** Influence of water potential on the failure of potato tissue, *Int. Agrophysics*, 14(2), 181-186, 2000.
15. **Harker F.R., Hallett I.C.:** Physiological and mechanical properties of kiwi-fruit tissue associated with change during cool storage. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 119, 987-993, 1994.
16. **Jackman R.L., Stanley D.W.:** Perspectives in the textural evaluation of plant foods. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 187-195, 1995.
17. **Khan A.A., Vincent J.F.F.:** Compressive rigidity and fracture properties of apple and potato parenchyma. *J. Texture Studies*, 24(4), 423-435, 1993.
18. **Konstankiewicz K., Pawlak K., Zdunek A.:** Quantitative method for determining cell structural parameters of plant tissue. *Int. Agrophysics*, 15(3), 161-164, 2001a.
19. **Konstankiewicz K., Pawlak K., Zdunek A.:** Influence of structural parameters of potato tuber cells on their mechanical properties. *Int. Agrophysics*, 15(4), 243 – 246, 2001b.
20. **Konstankiewicz K., Zdunek A.:** Method of acoustic emission in the studies of cracking processes in plant tissues. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, <http://www.ejpau.media.pl/series/volume3/issue2/engineering/art-01.html> , 2000.
21. **Konstankiewicz K., Zdunek A.:** Influence of turgor and cell size on the cracking of potato tissue, *Int. Agrophysics*, 15(1), 27-30, 2001.
22. **Konstankiewicz K., Czachor H., Gancarz M., Król A., Pawlak K., Zdunek A.:** Cell structural parameters of potato tuber tissue. *Int. Agrophysics*, 16, 2, 119-127, 2002.
23. **Pawlak K., Król A.:** Zmiany struktury tkanki bulwy ziemniaka w wyniku deformacji. *Acta Agrophysica*, 24, 109-133, 1999.
24. **Petran M., Hadravsky M., Boyde A.:** The tandem scanning reflected light microscope. *Int. Agrophysics*, 9(4), 275-286, 1995.

25. **Sanz P.D., Solas M., Otero L., de Elvira J.A., Carrasco J.A., Molina-Garcia A.D.:** Microstructure of frozen large fruits. *Pol. J. Food Nutri. Sci.*, 7/48, 3(S),65-68, 1998.
26. **Tomita M.:** Whole-cell simulation: A Grant Challenge of the 21st Century. *Trends in Biotechnology*, 19, 6, 205-210, 2001.
27. **Zdunek A., Konstankiewicz K.:** Emisja akustyczna w badaniach procesów pęknięcia tkanek roślinnych. *Acta Agrophysica*, 55, 95, 2001.

DETERMINATION OF GEOMETRICAL PARAMETERS OF PLANT TISSUE CELLULAR STRUCTURE

K. Konstankiewicz

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: konst@demeter.ipan.lublin.pl

Summary. This paper presents actual investigation of methods on determination of geometrical parameters of cellular structure of plant tissue leading in Department of Mechanics of Agricultural Materials: 1) for samples in natural state without preparation using light confocal microscope, 2) for impregnated samples with stabilised structure observed in optical transparency microscope.

Key words: parameters of structure, cellular structure of plant tissue, image analysis.